Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Bedeutung einer Trinkwasserverschmutzung durch Mineralölprodukte

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Thuisko Gerdes-Götz

Saarbrücken

1970

Druck:
Universitätsbibliothek Saarbrücken

Aus dem Pathologisch-Anatomischen Institut der
Universität des Saarlandes
Direktor: Professor Dr. med. G. Dhom
und dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie
der Universität des Saarlandes
Direktor: Prof.Dr.med. Dr.phil. Dipl.Chem. W.Zimmermann

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAGE DER BEDEUTUNG EINER TRINKWASSER-VERSCHMUTZUNG DURCH MINERALÖLPRODUKTE

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N
zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1 9 7 0

vorgelegt von
Thuisko Gerdes-Götz
geb. am 22. Februar 1940 in Dortmund

Dekan: Prof. Dr. med. G. Dhom
Referenten: Prof. Dr. med. G. Dhom
Prof.Dr.med.Dr.phil.Dipl.Chem.W.Zimmermann

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 15. Oktober 1970 abgelegt.

Der vorliegende Fütterungsversuch mit WISTAR-Ratten wurde im Dezember 1964 am Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität des Saarlandes, Direktor Professor Dr. med. Dr. phil. Dipl. Chem. W. ZIMMERMANN, von Herrn Professor Dr. Dr. Zimmermann und seinen Mitarbeitern angesetzt.

Im Oktober 1966 übernahm ich den laufenden Versuch, dessen Auswertung am Pathologisch-Anatomischen Institut der Universität des Saarlandes, Direktor Professor Dr. med. G. DHOM, durchgeführt wurde. Meine Aufgabe war es, die Tierhaltung bis zu Versuchsende zu leiten, die verendeten Tiere - teilweise auch die, die vor Oktober 1966 gestorben waren - zu sezieren und histologisch zu untersuchen.

Seiner Spektabilität, Herrn Professor Dr. Dhom danke ich sowohl für die zahlreichen Anregungen und für seine Hilfeleistungen bei der Histologie, als auch für die Bereitstellung von Hilfsmitteln seines Instituts.

Herrn Professor Dr. Dr. Zimmermann danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und das Untersuchungsmaterial.

Auch den Medizinisch-Technischen Assistentinnen des Histologischen Labors und den Tierpflegern des Hygieneinstituts möchte ich an dieser Stelle meinen Dank aussprechen.

Bereits im Jahre 1932 wies THOMAS auf das Problem der Grundwasserverunreinigung durch Kraftstoffe hin. In der heutigen Zeit mehren sich die Beschreibungen von Grundwasserverunreinigungen, die durch Katastrophen, Verkehrsunfälle, Fahrlässigkeit sowie Undichte von Lagerbehältern und Pipelines entstehen (ZIMMERMANN). Die meisten Autoren beschäftigen sich mit folgenden Problemen der Oberflächen- und Grundwasserverunreinigung und der damit verbundenen Trinkwasserverseuchung: In welchem Mischungsverhältnis ist Kraftstoff im Wasser sinnlich noch wahrnehmbar und dieses damit noch genießbar? Welche Nachweismethoden stehen zur Verfügung und wie empfindlich sind diese (HALSTRICK)?

Weiterhin wurde beobachtet, daß in kraftstoffverseuchten Gebieten die Flora teilweise vernichtet wird (ZIMMERMANN, FRICKE), Mikroorganismen, besonders Bakterien, gehemmt werden (ZIMMERMANN, JETTMAR) und höhere Kleinlebewesen absterben (ZIMMERMANN, WURZ, MANN). Beobachtungen dieser Art wurden meist nur bei Unfällen gemacht, d. h. bei Verschmutzungen des Bodens und damit auch des Grundwassers mit großen Mengen. Welche Auswirkungen aber haben Kraftstoffe, wenn sie über längere Zeit von Säugetieren aufgenommen werden?
BORNEFF und ZIMMERMANN haben diese Fragestellung bearbeitet. Beide Autoren konnten mit ihrer Methodik keine gesundheitsgefährdende Wirkung der Kraftstoffe nachweisen.

Da im Rahmen einer neuen Trinkwasserverordnung das Problem der Trinkwasserverunreinigung durch Kraftstoffe und deren eventuellen gesundheitsschädigenden Wirkung wieder aufgeworfen wurde, sollte dieser Fragenkomplex nochmals im Tierexperiment überprüft werden. Die gestellte Aufgabe umfaßt teilweise sowohl die Wiederholung der angeführten Arbeiten als auch eine Erweiterung der Methodik auf den gesamten Organismus der Versuchstiere.

M E T H O D I K

1. Versuchsgruppen

Aus der Vielfalt der Kraftstoffe, die bereits Grundwasserverunreinigungen verursacht haben, mußte eine Auswahl getroffen werden. Es wurden im Trinkversuch BENZIN und HEIZÖL getestet.

> Benzin ist im wesentlichen ein Gemisch aus gesättigten, aliphatischen Kohlenwasserstoffen mit 5 - 12 C-Atomen, in dem auch noch wechselnde Mengen von ungesättigten, naphthenischen und aromatischen Kohlenwasserstoffen enthalten sind. Letztere schwanken in Deutschland zwischen 12 und 35 %. Teilweise sind die Benzine noch mit 0,02 - 0,08 Vol % Bleitetraäthyl verbleit.
>
> Heizol ist im wesentlichen ein Gemisch aus geradkettigen Paraffinkohlenwasserstoffen mit 10 und mehr C-Atomen sowie Olefinen, Naphthenen und Aromaten.
>
> (nach NÖLLER, RÖMPP, EILERS)

Um eine Überschneidung der Befunde, die durch Benzin und den Bleizusatz hervorgerufen werden könnten, zu vermeiden, wurde ein Benzin gewählt, das nach Angaben des Herstellers bleifrei ist (Aral). Als Bleiverbindung wurde dann Bleiacetat getestet, und zwar als reine Verbindung und als Zusatz zu Benzin.

Um einer exakten Testung eines durch Kraftstoff verunreinigten Trinkwassers gerecht zu werden, wurden diese Kraftstoffe in Wasser gelöst verfüttert. Es wurde darauf verzichtet, auch dem Futter noch Benzin oder Heizöl zuzusetzen. Die Versuchsgruppen, die sich daraus ergeben, sind folgende:

Die Tiere der Gruppe I bekommen reines Trinkwasser und gelten

als Kontrolle. Die Tiere der Gruppe II erhalten mit Heizöl (Shell), die der Gruppe III mit Benzin (bleifrei) verunreinigtes Trinkwasser. Gruppe IV erhält Trinkwasser, in dem Bleiacetat aufgelöst wurde. Dieses zusätzlich mit Benzin vermischt wurde bei Gruppe V getestet. (Zur Erläuterung nachstehende Tabelle 1)

Tabelle 1: Fütterungsgruppen

Gruppe I	: reines Wasser (Kontrollgruppe)
Gruppe II	: Wasser mit Heizöl
Gruppe III	: Wasser mit bleifreiem Benzin
Gruppe IV	: Wasser mit Bleiacetat
Gruppe V	: Wasser mit Bleiacetat und Benzin

2. Versuchstiere und Tierhaltung

Als Versuchstiere dienten weibliche WISTAR-Ratten, Stamm AF/Han (Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover). Jede Gruppe bestand aus 100 Tieren. Sie wurden in einem Warmstall bei einer Temperatur von 22 - 25° C gehalten, und zwar jeweils 5 Tiere in einem Käfig. Die Käfige bestanden aus durchsichtigem Kunststoff mit einem Deckel aus Drahtgitter, in dem eine Futterleiste eingelassen war und in den Langrohrsaugflaschen aus Weichplastik (250 ml Inhalt) eingesteckt wurden.

Die Käfige brachte man in vier dazu passenden Ständern unter und numerierte sie fortlaufend.

Der Versuch wurde nach einer 14-tägigen Eingewöhnungszeit für die Tiere begonnen. In dieser Zeit starben 2, die zur Kontrollgruppe gehörten. Das Festfutter ALTROMIN R sowie das Trinkwassergemisch wurden während des gesamten Versuches über 30 Monate ad libitum bereitgestellt. Um die Sterberate bestimmen zu können und um maximale Ergebnisse zu erhalten, kamen bis zum 29. Monat nur spontan gestorbene Tiere zur Auswertung. Das barg zwar die Gefahr in sich, daß viele schwache oder gerade verendete Tiere von den Stallgenossen über Nacht soweit aufgefressen wurden, daß sie der Auswertung verlorengingen. Die Tiere, die im 30. Versuchsmonat noch lebten, wurden getötet, da sie die zu erwartende durchschnittliche Altersgrenze von 2 bis 2 1/2 Jahren (JAFFE) bereits überschritten hatten.

3. Dosierung der Noxen

Die Mineralölkonzentrationen im Trinkwasser wurden von ZIMMERMANN wie folgt angesetzt:

Gruppe II 1 ml Heizöl in 100 ml Wasser
Gruppe III 1 ml Benzin in 100 ml Wasser
Gruppe IV 2,7 mmg Bleiacetat in 100 ml Wasser
Gruppe V 1 ml Benzin + 2,7 mmg Bleiacetat in 100 ml Wasser

Eine IR-spektroskopische Bestimmung der Mineralölkonzentrationen in der frisch hergestellten Trinkwassermischung von RÜBELT ergab:

100 mg / 1 Benzin
32,5 mg / 1 Benzin

als maximal gelöste Menge von Benzin bzw. Heizöl im Trinkwasser.

Zur Dosierung des Bleiacetats wurde die von DUKES angegebene toxische Bleimenge pro Tag mit 0,54 mmg und einer durchschnittlichen Trinkmenge von 20 ml pro Tag und pro Ratte zugrunde gelegt.

Die Trinkwassermischungen wurden jeweils fünfliterweise angesetzt und vor der Verteilung nochmals gut durchgeschüttelt. Die Trinkflaschen der Tiere wurden nach Bedarf nachgefüllt.

4. Auswertung

Die Auswertung des Versuches wurde an spontan gestorbenen Tieren vorgenommen - wie bereits erwähnt. Nachfolgend die Untersuchungsmethode:
Jedes gestorbene Tier wurde auf einer Karteikarte erfaßt, in die die Fütterungsgruppe, das Sterbedatum und das Todesgewicht eingetragen wurden. Auf Verlaufsgewichte mußte bei der Menge der Versuchstiere verzichtet werden. Alle weiteren Befunde über Aspekt, Obduktion und Histologie wurden ebenfalls auf dieser Karte vermerkt.

Die Obduktion ging folgendermaßen vor sich:
Zunächst wurden Haut und Muskulatur über Abdomen und Thorax soweit freipräpariert, daß die Milchleisten beurteilt werden konnten. Anschließend wurden Abdomen und Thorax eröffnet und inspiziert, ebenso Speiseröhre und Magen-Darm-Trakt. Für die histologische Untersuchung wurden routinemäßig

Lunge, Leber, Milz und Niere, sowie alle Organe mit pathologischem Befund entnommen. Diese wurden in 10%iger Formalinlösung fixiert und in Paraffin eingebettet. Die Präparate wurden routinemäßig mit Hämatoxylin-Eosin und nach VAN GIESON gefärbt. Darüber hinaus waren manchmal zur Abklärung von Befunden weitere Färbungen oder histochemische Reaktionen notwendig, über die weiter unten berichtet wird.

Die histologische Beurteilung wurde öfters durch autolytische Organveränderungen sehr erschwert. Weitere Schwierigkeiten bei der Beurteilung ergaben sich bei der Abgrenzung der pathologischen Befunde zur geriatrischen Pathologie hin, da mehr als 50 % der zur Auswertung tauglichen Tiere älter als 24 Monate waren. Die Vielfalt der beobachteten histologischen Befunde mußte in Gruppen zusammengefaßt werden, ohne daß dabei die symptomatischen Beziehungen verlorengehen durften.

Das Zahlenmaterial der Auswertung wurde statistisch erfaßt, um Signifikanzen zu sichern. Die statistische Auswertung erfolgte nach dem Vierfelder- und Mehrfelder-Chi-Quadrat-Test. Zugrundegelegt wurde eine Fehlermöglichkeit von 5 %. Als Tabellenwerk wurde die DOCUMENTA GEIGY, als Lehrbuch das von LIENERT und das von MITTERECKER benutzt.

E R G E B N I S S E

1. Durchschnittsgewichte

Bestimmt wurde, wie bereits erwähnt, nur das Gewicht der Tiere nach dem Tod. Tabelle 2 zeigt in Spalte 1 das Durchschnittsgewicht der einzelnen Gruppen, in Spalte 2 die oberen und unteren Extreme. Auffallend sind die großen Differenzen zwischen den beiden Grenzwerten. Diese sind dadurch zu erklären, daß die niederen Werte größtenteils von bereits in den ersten sechs Monaten gestorbenen Tieren stammen. Die Höchstgewichte liegen teilweise um 25 % niedriger als bei anderen beobachteten WISTAR-Ratten gleichen Geschlechts.

Tabelle 2: Durchschnittsgewichte und ihre Schwankungsbreite

Gruppe	Durchschnittsgewicht	Grenzen
I Kontrolle	198,4 g	130 - 330 g
II Heizöl	183,5 g	130 - 310 g
III Benzin	209,8 g	130 - 370 g
IV Bleiacetat	206,3 g	155 - 310 g
V Bleiacetat + Benzin	193,5 g	120 - 350 g

Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen konnten nicht nachgewiesen werden.

2. Lebenserwartung und Sterberate

Die Kurven 1 - 4 (Seite 10 - 13) stellen die Absterberate der einzelnen Versuchsgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe dar. Einen Überblick über die durchschnittliche Überlebenszeit der einzelnen Gruppen nach Versuchsbeginn gibt Tabelle 3.

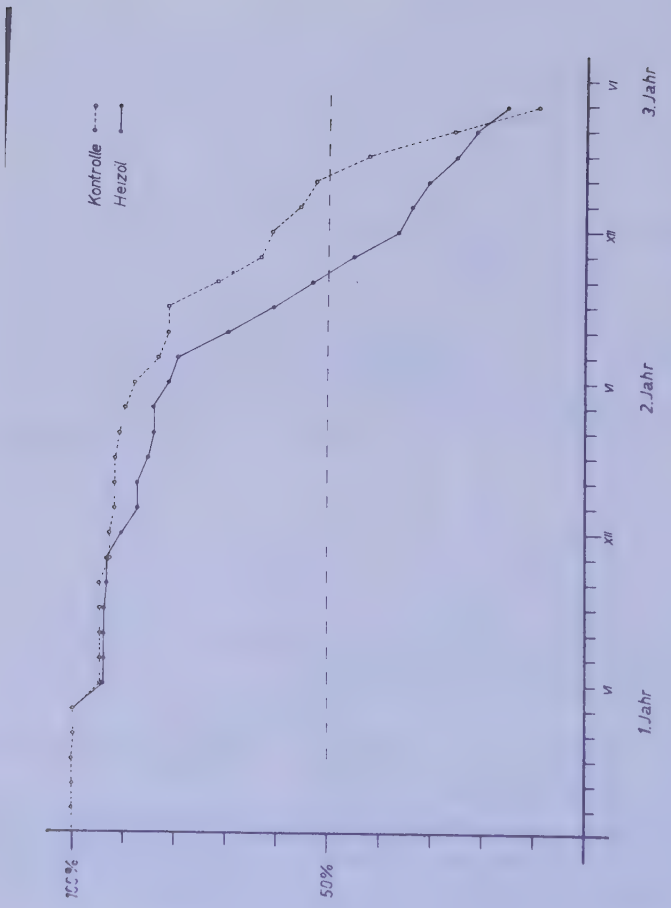
Tabelle 3: Durchschnittliche Überlebenszeit nach Versuchsbeginn

Gruppe		x)	Durchschnittsalter	Grenzen
I	Kontrolle	95	24,3 Monate	6 - 30 Monate
II	Heizöl	98	22,3 "	6 - 30 "
III	Benzin	97	22,2 "	6 - 30 "
IV	Bleiacetat	92	20,7 "	1 - 30 "
V	Bleiacetat + Benzin	91	22,0 "	6 - 30 "

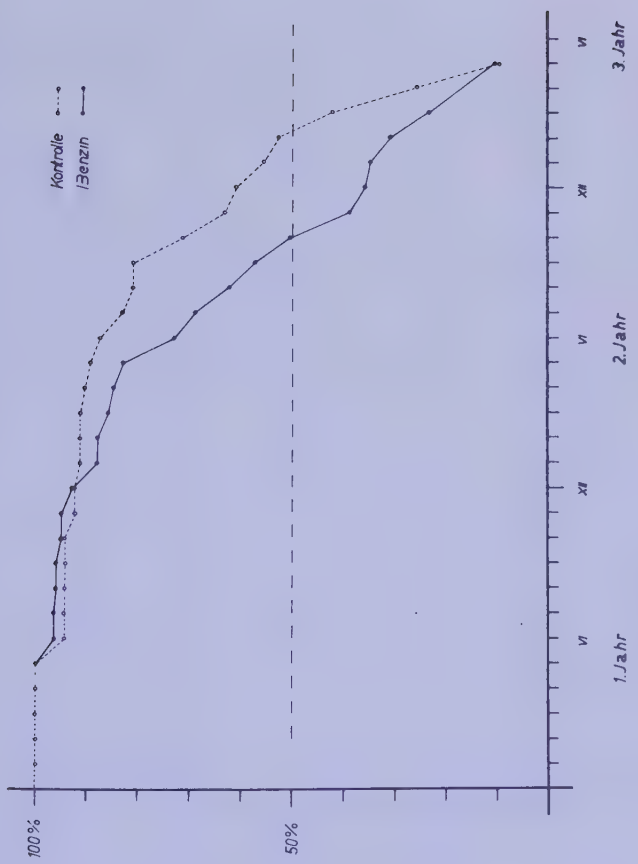
x) = Zahl der verwerteten Tiere

Die Kurvendiskussion der Sterberate ergibt einige statistisch signifikante Ergebnisse:
Der Zeitpunkt, zu dem 50 % der Tiere gestorben sind, liegt bei allen Versuchsgruppen um den 22. Monat nach Versuchsbeginn, wogegen dieser Wert von der Kontrollgruppe erst im 26. Monat nach Versuchsbeginn erreicht wird.

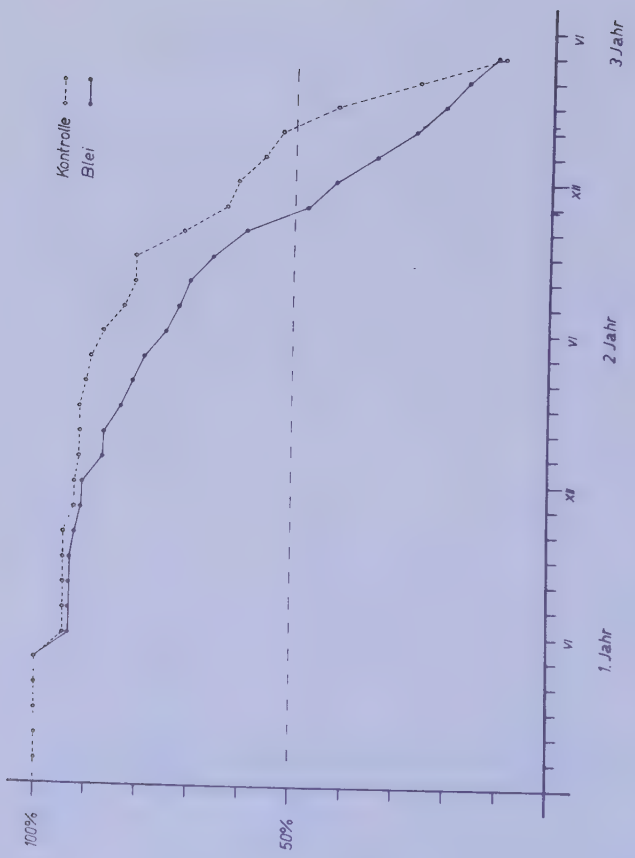
In den Gruppen III - V (Benzin, Bleiacetat, Bleiacetat + Benzin) ist die Sterberate ab 18. Versuchsmonat, in der Gruppe II (Heizöl) ab 19. Versuchsmonat gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erhöht.



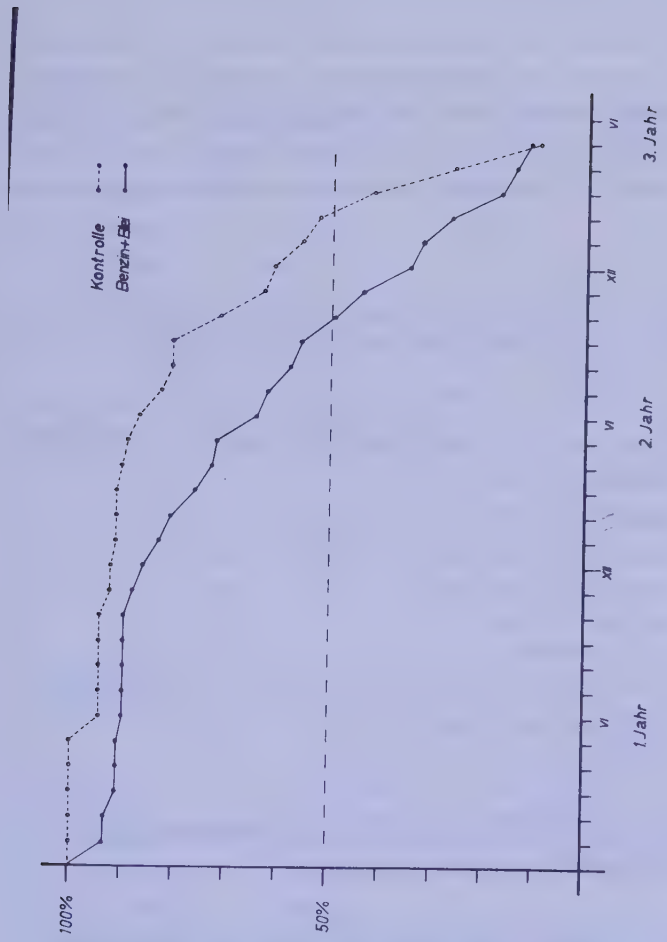
Kurve 1: Sterberate der Gruppe II (Heizöl) im Vergleich zur Kontrollgruppe



Kurve 2: Sterberate der Gruppe III (Benzin) im Vergleich zur Kontrollgruppe



Kurve 3: Sterberate der Gruppe IV (Bleiacetat) im Vergleich zur Kontrollgruppe



Kurve 4: Sterberate der Gruppe V (Bleiacetat + Benzin) im Vergleich zur Kontrollgruppe

3. Tumoren

Als Tumoren bei der Obduktion imponierten vor allem solche der Milchleiste, dann Tumoren, die vom Genitaltrakt ausgehen, Splenomegalien und, nur in einem Fall, ein Tumor des Magen-Darm-Traktes. Tabelle 4 zeigt, wie häufig diese Organe in den einzelnen Versuchsgruppen befallen waren.

Tabelle 4: Übersicht über die Organe, die von Tumoren befallen waren und deren Häufigkeit

Gruppe		x)	Mamma	Genitale	Milz	Magen-Darm
I	Kontrolle	74	26	8	14	0
II	Heizöl	58	14	7	4	1
III	Benzin	76	28	9	10	0
IV	Bleiacetat	52	19	1	10	0
V	Benzin + Bleiacetat	66	18	9	9	0

x) = Zahl der verwerteten Tiere

Auf die Bewertung der Milztumoren wird später unter der Überschrift 'Milzbefunde' eingegangen.

Die nächste Tabelle gibt Auskunft über die Rate der von Tumoren befallenen Tiere der einzelnen Versuchsgruppen, sowie die Aufteilung in benigne und maligne . In diesem Zahlenmaterial sind die Milztumoren nicht enthalten.

Tabelle 5: Tumorrate der einzelnen Versuchsgruppen und Aufteilung in benigne und maligne

Gruppe		x)	Tumoren	benigne	maligne
I	Kontrolle	74	39	33	6
II	Heizöl	58	26	18	8
III	Benzin	76	39	33	6
IV	Bleiacetat	52	26	20	6
V	Bleiacetat + Benzin	66	32	27	5

x) = Zahl der verwerteten Tiere

Eine Signifikanz ließ sich weder für die Werte der Tabelle 4 noch für die der Tabelle 5 statistisch sichern.

Tabelle 6: Tumoren der Milchleiste

Gruppe		x)	Tumorrate	benigne	maligne
I	Kontrolle	74	26	23	3
II	Heizöl	58	14	12	2
III	Benzin	76	28	25	3
IV	Bleiacetat	52	19	14	5
V	Bleiacetat + Benzin	66	18	14	4

x) = Zahl der verwerteten Tiere

In Tabelle 6 werden die Tumoren der Milchleiste noch getrennt betrachtet. Histologisch gesehen waren die meisten Mammatumoren cystische Fibroadenome, wobei manchmal der fibröse, meist aber der adenomatöse Anteil überwog. Die Malignome waren in allen Fällen Adenocarcinome. Fernmetastasen wurden nur in einzelnen Fällen beobachtet.

Eine Signifikanz ergab sich für die maligne Entartung der Milchleistentumoren in der Gruppe IV, an die Wasser mit Bleiacetat vermischt gefüttert wurde.

Auffällig ist die Diskrepanz zwischen den von Milchleistentumoren befallenen Tieren der Kontrollgruppe und der in der Literatur angegebenen spontanen Mammatumorrate für WISTAR-Ratten. RATCLIFFE gibt als spontane Tumorrate 3,1 % an. Der Anteil der Milchleistentumoren beträgt dabei 77 %. Maligne Entartungen fielen bei 5,1 % auf.

4. Milzbefunde

Schon bei der Obduktion konnte man feststellen, daß sehr oft die Milz eine ausgeprägte braune Farbung hatte. Histologisch sah man ein braunes, scholliges Pigment in zum Teil großen Plaques im Bereich der roten, dagegen kaum in der weißen Pulpa. Mit der BERLINER-BLAU- und mit der TURNBUL-Reaktion färbte sich das Pigment intensiv blau an. Bei etwa 30 % der Fälle waren gleichzeitig eine Hamosiderose der Leber und bei etwa 30 % der Fälle eine Pigmentierung der Hauptstückepithelien der Niere zu beobachten. Eine Splenomegalie aufgrund einer Milzstauung lag nie vor.

Bei alteren Tieren fiel es schwer, die Abgrenzun der Follikel zu bestimmen, wie es JAFFE beschreibt. In diesen Fällen

verringerte sich der Hämosiderinanteil erheblich. Die Korrelation zwischen diesen beiden Beobachtungen sowie die Verteilung der Hämosiderose der Milz ist aus Tabelle 7 ersichtlich.

Tabelle 7: Hämosiderose der Milz in % der befallenen Tiere und Korrelation dieser zu Follikelveränderungen.

Gruppe		x)	Siderose stark	Siderose schwach	Follikelveränderung	Splenomegalie
I	Kontrolle	57	45,5 %	30,0 %	56,0 %	24,5 %
II	Heizöl	32	69,0 %	31,0 %	12,5 %	12,5 %
III	Benzin	51	41,0 %	21,5 %	33,5 %	19,5 %
IV	Bleiacetat	36	39,0 %	41,5 %	50,0 %	28,0 %
V	Bleiacetat + Benzin	46	41,0 %	35,0 %	30,0 %	19,5 %

x) = Zahl der verwerteten Tiere

Die Einteilung der beiden Siderosestärken in Tabelle 7 wurde nach folgenden Gesichtspunkten getroffen:
Eine Siderose wurde als stark bezeichnet, wenn das TURNBUL-Präparat makroskopisch blau erschien. War die Siderose nur mikroskopisch zu erkennen, dann wurde sie als schwach bezeichnet.

Wie bereits unter der Überschrift '3. Tumoren' beschrieben, fiel häufig eine Splenomegalie auf, die nicht durch Stauung zustande kam. Die dazu gehörenden histologischen Präparate zeigten meist eine vermehrte Zellzahl der roten Pulpa. Hierbei imponierten vor allem basophile Zellhaufen, unreife Zellen und gewucherte Plasmazellen.

5. Leberbefunde

Tabelle 8: Histologische Leberbefunde

Gruppe		x)	Siderose	Cholangiome	Necrosen
I	Kontrolle	64	26	31	10
II	Heizöl	43	13	19	7
III	Benzin	57	16	30	6
IV	Bleiacetat	40	13	23	5
V	Bleiacetat + Benzin	52	15	27	4

Gruppe		buntes Zellbild	Leberbefunde insgesamt
I	Kontrolle	31	36
II	Heizöl	7	21
III	Benzin	21	30
IV	Bleiacetat	13	23
V	Bleiacetat + Benzin	22	27

x) = Zahl der verwerteten Tiere

Auch die histologischen Präparate der Leber boten oft eine Hämosiderose der Leberzellen sowie der KUPFER'schen Sternzellen. Auch hier laßt sich die Hämosiderose nicht auf eine Stauung zurückführen.

Haufig sind Befunde, die auf eine Schadigung der Leber hinweisen:

Diffuse Einzelzellnecrosen, ein buntes Zellbild mit pyknotischen Kernen bis zu Kernteilungsbildern. Oft imponierten sog. Cholangiome, deren Epithel jedoch meist hochprismatisch und nicht abgeflacht war. Tabelle 8 zeigt die Verteilung dieser Befunde im einzelnen und in der letzten Spalte die Anzahl der Fälle, in denen insgesamt ein Leberbefund erhoben wurde. Entzündliche Lebererkrankungen oder Cirrhosen wurden nicht beobachtet.

Signifikante Abweichungen der Werte der Versuchsgruppen gegenüber denen der Kontrollgruppe lassen sich statistisch nicht nachweisen.

6. Nierenbefunde

Die histologische Auswertung der Nierenpräparate wurde durch verhältnismäßig früh eintretende Autolyse sehr erschwert. Eine Beurteilung der Tubuluszellen war nicht eindeutig möglich, so daß z. B. feine Veränderungen durch die Bleiacetatgabe, wie sie von ZOLLINGER beschrieben wurde, nicht beobachtet werden konnten. Auch makroskopisch war weder eine Veränderung hinsichtlich der Größe (ZOLLINGER), noch eine Veränderung in Richtung Bleischrumpfniere zu finden. Maligne Entartungen, wie sie von DUKES und ZOLLINGER angegeben werden, traten nicht auf. Cystische Erweiterungen der Tubuli wurden oft gesehen, sind aber nicht signifikant für die Versuchsgruppen, an die mit Bleiacetat vermischtes Wasser verabreicht wurde. Auffällig war die Häufigkeit eines gelb-braunen, feingekörnten Pigmentes in den Zellen und, jedoch seltener, in den Lumina der proximalen Tubuli. Mit der BERLINER-BLAU- und auch der TURNBUL-Reaktion färbte es sich nicht an. Mit einer Behandlung nach KARDASEWITCH ließ sich das Pigment nicht ausbleichen. Auch der histochemische Bleinachweis mit Kaliumbichromat fiel negativ aus. Es könnte sich dabei um Aposiderin

handeln, ein Glucoproteinrest des Hämosiderins.

Tabelle 9 zeigt die Häufigkeit, mit der Cysten der Tubuli und das oben beschriebene Pigment auftraten.

Tabelle 9: Nierenbefunde: Cystische Tubuluserweiterungen und hellbraune Pigmentierung der proximalen Tubuluszellen

Gruppe		x)	Cysten	Pigment
I	Kontrolle	59	16	52
II	Heizöl	38	5	35
III	Benzin	56	12	54
IV	Bleiacetat	39	9	38
V	Bleiacetat + Benzin	48	10	46

x) = Zahl der verwerteten Tiere

7. Lungenbefunde

Die histologische Untersuchung der Lunge galt vor allem der Frage, ob sich Abwehrschwäche und damit Infektanfälligkeit einer Versuchsgruppe zeigt. In Tabelle 10 sind die Erkrankungen sowie deren Häufigkeit dargestellt. In der letzten Spalte ist zusammengefaßt, wie häufig die Tiere überhaupt an einer Lungenaffektion erkrankt waren. Eine Disposition irgendeiner Versuchsgruppe war nicht zu beobachten.

Tabelle 10: Lungenbefunde

Gruppe		x)	Bronchitis	Pneumonie	Bronchopneumonie	Lungenaffektion
I	Kontrolle	65	27	8	7	42
II	Heizöl	40	16	4	0	20
III	Benzin	58	30	4	3	37
IV	Bleiacetat	42	18	5	4	27
V	Bleiacetat + Benzin	50	15	7	1	23

x) = Zahl der verwerteten Tiere

D I S K U S S I O N

Bei Durchsicht der Versuchsergebnisse drängt sich die Frage auf, in wieweit die verfütterten Noxen überhaupt von den Tieren aufgenommen wurden. Wenn man diese Frage beantworten will, muß man einzelne Punkte, von der Herstellung der Tränklösung bis zu deren Resorption im Magen-Darm-Trakt beleuchten.

Die Frage der Loslichkeit von Benzin oder Heizöl in Wasser ist von mehreren Autoren bearbeitet worden. ALBERS-MEYER gibt an, daß in gesättigten Benzin-Wasser-Gemischen 145 mg Benzin pro Liter und in gesättigten Heizöl-Wasser-Gemischen 22 mg Heizöl pro Liter Gemisch enthalten sind. RÜBELT hat das in diesem Versuch verwendete Trinkwassergemisch IR spektroskopisch analysiert und 100 mg/l Benzin und 32,5 mg/l Heizöl gefunden. Das bedeutet, daß die hohe Dosierung der Noxen im Ansatz keinesfalls von den Tieren aufgenommen wurde.

Weiterhin werden diese Konzentrationen kurz nach intensivem Mischen erreicht. Da die Trinkwassergemische in diesem Versuch teilweise 36 bis 48 Stunden lang ruhigstanden, ist es nicht ausgeschlossen, daß sich Heizöl oder Benzin auf der Wasseroberfläche abgesetzt haben und daß die tatsächliche Konzentration, die dann von den Tieren aufgenommen wurde, noch niedriger lag. Bei Wiederholung eines solchen Versuches wäre es besser, die Dosis der Noxen zu erhöhen und diese mittels einer Schlundsonde zu geben, was dann die oben angeführten Fehlerquellen ausschließt. Doch birgt diese Methode wieder die Gefahr in sich, daß örtliche Reaktionen, wie sie z. B. bei Pinselversuchen mit Erdolderivaten von DIETZ beobachtet wurden, auftreten konnen.

Schwerer zu beantworten ist die Frage, ob Benzin oder Heizöl von den Tieren überhaupt resorbiert wird und wie hoch dabei der resorbierte Anteil im Verhältnis zur aufgenommenen Menge ist. Untersuchungen hierüber sind unseres Wissens nach nicht gemacht worden.

Anders verhält es sich dagegen bei Bleiverbindungen. Bei chronischen Bleiintoxikationen werden Nierenveränderungen (ZOLLINGER, DUKES) und Bleiablagerungen im Skelett (GUSSE - ROW, GROSSMANN) beschrieben. Bleiverbindungen werden resorbiert. Doch ähnliche Nierenbefunde konnten nicht beobachtet werden, obwohl als toxisch zu betrachtende Dosen von Bleiacetat verfüttert wurden. Zwar waren die feinen Veränderungen, wie sie ZOLLINGER an den Zellen der Hauptstücke beschreibt, wegen der meist fortgeschrittenen Autolyse nicht beurteilbar, doch hätte man Enthemmungshyperplasien, Adenome und Carcinome erkennen können. Die für chronische Bleiintoxikationen beschriebenen Einschlußkörper oder cystische Tubuluserweiterungen wurden zwar beobachtet, waren aber nicht charakteristisch für die Versuchsgruppen, an die Bleiacetat verfüttert wurde.

Daß das Durchschnittsgewicht im Vergleich zu anderen beobachteten WISTAR-Ratten geringer war, scheint eine Eigenart dieses Stammes zu sein. Irgendeine Resorptionsanomalie konnte nicht beobachtet werden. Zwar war ein Teil der Tiere ausgesprochen kachektisch, doch wurde andererseits bei älteren Tieren auch eine ziemliche Adipositas beobachtet.

Die hohe spontane Tumorrate sowie die massive Hämosiderose, vor allem der Milz, lassen diesen Rattenstamm für Versuche, die über eine längere Zeit laufen sollen, ungeeignet erscheinen. Leider konnten vom Züchter keine Angaben über eine Spontantumorrate gemacht werden, so daß zum Vergleich nur die Zahlen von RATCLIFFE herangezogen werden können.

Die Ursache der Hämosiderose konnte nicht mehr geklärt werden; ein Zusammenhang mit einer eventuell bestehenden Kachexie - über die Wirkungskette Unterernährung, Eiweißmangel und damit das Fehlen von Apoferritin und die daraus folgende verminderte Eisenbindungskapazität - ist nicht nachweisbar. Blutbilder wurden im Rahmen dieses Versuches nicht angefertigt. Es muß ein hämolytischer Prozeß angenommen werden, der unabhängig von einer der verfütterten Noxen ist.

Ob die große Zahl der Lungenaffekte auf eine allgemeine Resistenzminderung des ganzen Stammes, eventuell im Rahmen der oben beschriebenen Erkrankungen, oder auf eine altersbedingte Infektanfälligkeit zurückzuführen ist, läßt sich nicht so leicht beantworten. Eine Verschiebung der Häufigkeit der Lungenbefunde in ein besonderes Lebensalter war nicht zu beobachten. Doch fiel auf, daß die Befunde bei den jünger verstorbenen Tieren massiver und zum Teil für den Tod verantwortlich waren, so daß man doch eine allgemeine Resistenzverminderung annehmen könnte.

Eine gesundheitsschädigende Wirkung der verfütterten Noxen ist in der Letalitätsrate nachweisbar: Der Zeitpunkt, zu dem 50 % der Tiere in den Versuchsgruppen gestorben sind, liegt signifikant früher als der der Kontrollgruppe.
So im Versuchsmonat (bei Gruppe II - Heizöl - im 19. Monat) ist die Sterberate der Tiere aus den Versuchsgruppen gegenüber denen der Kontrollgruppe signifikant erhöht. Dieses Ergebnis ist statistisch signifikant im Sinne der Auslegung von Lindner.
Diese Befunde können selbstverständlich nicht auf eine andere Tierart, geschweige denn auf den Menschen direkt über-

tragen werden, zumal die vorangehenden Ausführungen dafür sprechen, daß die verwendeten Tiere für einen derartigen Versuch nicht geeignet waren. Zwar konnte ein Mäuseversuch von BORNEFF, in dem in einer Gruppe ein Tensid-Mineralöl-Wasser-Gemisch verfüttert wurde, und ein solcher von ZIMMERMANN, in dem ein Heizöl-Wasser- und ein Benzin-Wassergemisch verabreicht wurden, einen krebafördernden Effekt nicht nachweisen. Doch waren diese Versuche auch nur mit der Fragestellung der Cancerogenität durchgeführt worden.

Eine Aussage darüber, ob mit Benzin oder Heizöl verunreinigtes Wasser für den Menschen eine gesundheitsschädigende Wirkung hat, kann heute anhand dieser Untersuchungen noch nicht gemacht werden.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Es wurde an vier Versuchsgruppen von weiblichen WISTAR-Ratten ein mit Heizöl, mit Benzin, mit Bleiacetat und mit einem Gemisch aus Benzin und Bleiacetat verunreinigtes Trinkwasser über einen Zeitraum von 30 Monaten verfüttert. Die spontan gestorbenen Tiere wurden nach Gewicht, Sterbealter, Tumoren sowie nach Leber-, Milz-, Nieren- und Lungenbefunden mit einer Kontrollgruppe verglichen. Eine gesundheitsschädigende Wirkung der Noxen konnte insoweit gezeigt werden, als die Sterberate der Versuchstiere ab 18. Monat gegenüber der der Kontrolltiere signifikant erhöht war.
Die Aussagekraft des Versuches muß jedoch eingeschränkt werden, da Spontanerkrankungen, auch in der Kontrollgruppe, mit über 50%iger Häufigkeit auftraten.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. ALBERSMEYER, W.

   Eine Methode zur quantitativen Bestimmung von Verunreinigung des Trink- und Brauchwassers durch Treibstoff und ähnliche Substanzen.
   Städtehygiene 1958, 85-87

2. BORNEFF, J.

   Mäusefütterungsversuch mit 3,4-Benzpyren, Mineralöl und Tensiden
   Arch. Hyg. 147 (1963), 28

3. COHRS, P., R. JAFFE und H. MEESSEN

   Pathologie der Laboratoriumstiere
   Band 1, 1958, Springer Verlag Berlin
   Band 2

4. DIETZ, W. A., W. H. KING, W. PRIESTLEY and J. REHNER

   Properties of High Boiling Petroleum Products
   Industrial and Engineering Chemistry, 1952, 1818-1827

5. DOCUMENTA GEIGY

   Wissenschaftliche Tabellen,
   6. Auflage 1960

6. DUKES, C. E.

   Clues to the causes of cancer of kidney
   The Lancet, 1961, 1157

7. EILERS, H.

   Mineralöl und Trinkwasser
   Water, Boden, Lucht, 50 (1960), 58

8. FRICKE, K., KRAUSE-WICHMANN

   Stärkere Grundwasserverunreinigung durch Benzin bei Wesel
   Gesundheitsingenieur 74 (1953), 394

9. GOSSMANN, H. H. und S. HEILENZ

   Zum Bleigehalt menschlichen Knochengewebes
   DMW 1967, 2267-2269

10. GUSSEROW, A.

Untersuchungen über Bleivergiftung
Virchows Archiv der patholog. Anatomie 1861, 443

11. HALSTRICK, J.

Verunreinigung von Trinkwasser durch Mineralöle und experimentelle Versuche zu deren Nachweis mit Hilfe der Lumineszenzanalyse
Arch. Hyg. 128 (1942), 155

12. JETTMAR, H.

Über Verunreinigungen des Grundwassers durch schwer abbaufähige Stoffe
Gas, Wasser, Wärme, Ztschr. öster. Ver. Gas- und W.-Fach 10 (1956), 323

13, LIENERT, Gustav

Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik
Verlag Anton Hain, Meisenheim/Glan, 1962

14. MANN, H.

Geschmackbeeinflussung bei Fischen aus dem Hamburger Hafengebiet
Städtehygiene 1951, 123

15. MITTERECKER, Erich

Planung und statistische Auswertung von Experimenten
Verlag Deutik, Wien, 1952

16. NÖLLER, C.

Lehrbuch der Organ. Chemie
Springer Verlag Berlin, 1960

17. RATCLIFFE, H. L.

Spontaneous tumors in two colonies of rats of the Wistar institute of anatomie and biology
Amer. J. Path. 16 (1940), 237

18. RÖMPP, H.

Chemielexikon I
Franckh'sche Verlagshandlung, Stuttgart, 1962

19. RÜBELT, CH.

Mitteilung der Analysenwerte des Rattentrinkwassers vom 20. 11. 1964

20. THOMAS, P.

Verunreinigung von Wassergewinnungsanlagen durch Benzin oder dergleichen und Behebung derselben
Gsd. Ing. 55 (1932), 8

21. WURZ, F.

Gefährdung von Grund- und Oberflächenwasser durch Lagerflüssigkeiten
GWF 96 (1955), 461

22. ZIMMERMANN, W.

Wasser und Mineralöle
R. Oldenbourg Verlag München und Wien, 1967

23. ZIMMERMANN, W.

Nichtveröffentlichter Mäusefütterungsversuch mit Heizöl und Benzin
Gutachten für die Bundesregierung, 1965

24. ZOLLINGER, H. U.

Niere und ableitende Harnwege in DOERR-UEHLINGER:
Spezielle pathologische Anatomie, Band 3, 1966
Springer Verlag Berlin

L E B E N S L A U F

Name	Thuisko Gerdes-Götz
Geburtsdatum	22. Februar 1940
Geburtsort	Dortmund
Eltern	Dr. med. Thuisko Gerdes-Götz und Frau Auguste, geb. Auler
Familienstand	verheiratet, ein Kind

AUSBILDUNG

1946 - 1947	Volksschule Bad Köstritz/Thür.
1947 - 1950	Volksschule Saarbrücken
1950 - 1951	Knabenmittelschule Saarbrücken
1951 - 1955	Realgymnasium Saarbrücken
1955 - 1958	Internat Berg/Obb.
1958 - 1962	Oberrealschule Bad Tölz/Obb.
WS 1962 - SS 1963	Studium der Tiermedizin, München
WS 1963 - WS 1965	Studium der Medizin, München
1966	Medizinische Vorprüfung
SS 1966 - WS 1968	Studium der Medizin, Homburg/Saar
SS 1969	Medizinisches Staatsexamen

ANSTELLUNG

Seit 1. Sept. 1969	Medizinalassistent in den Städtischen Krankenanstalten Saarbrücken